

병귤과피의 주정 침출 중 유용성분의 변화

이상협 · 김종현 · 정희찬 · 양영택¹ · 고정삼*

제주대학교 생명공학부, ¹제주도농업기술원

Changes of Major Constituents by Soaking of *Citrus platymamma* Peel with Spirit Solution

Sang-Hyup Lee, Jong-hyun Kim, Hee-Chan Jeong, Young-Taek Yang¹ and Jeong-Sam Koh*

Faculty of Biotechnology, Cheju National University, Ara-dong, Jeju 690-756, Korea

¹Jeju Provincial Agricultural Technology Institute, Jeju 690-750, Korea

Received June 4, 2007; Accepted August 11, 2007

In order to prepare liqueur of *Citrus platymamma*, 500 g dried peel was soaked in 10 l (5%, w/v) of 30~95% ethanol concentration for 70 days. Changes in pH was 5.19~4.80 with 30% ethanol concentration, and the pH was decreased as ethanol concentration decreases for 10 days after soaking. Color a-value was decreased and color b-value was increased according to higher ethanol concentration. Extract was 2.00~2.19% (w/v) with 30~70% ethanol concentration. Acid content was 0.18~0.21% (v/v) with 30~70% ethanol concentration, while 0.13~0.15% (v/v) with 95% ethanol concentration. The contents of fructose and glucose was increased with lower ethanol concentration, and sucrose content was decreased with longer soaking time. Main flavonoids were narirutin, hesperidin, nobiletin, 3,5,6,7,8,3',4'-methoxylated flavone, and tangeretin. Most flavonoids were extracted more than 80% of ethanol for 3~5 days soaking. Total polyphenol was 628.8~711.2 µg/ml with 30~70% ethanol concentration for 20 days soaking. Therefore, to prepare *Citrus platymamma* peel liqueur, it is necessary to soak the material in 50~70% ethanol concentration for 20 days.

Key words: *Citrus platymamma* peel, DPPH radical scavenging, soaking, flavonoid, total polyphenol

서 론

감귤은 제주생명산업으로 도내 총생산의 16%, 농가소득의 약 51%를 차지하고 있다. 현재 재배품종은 대부분 조생온주밀감으로 과잉생산체제라는 구조적인 한계에 가지고 있다. 따라서 제주감귤산업의 안정적인 발전을 위한 새로운 수요창출이 필요한 시점으로, 감귤의 이용기술 개발로 재배품종의 다양화 및 산업화가 절실한 실정이다.¹⁾ 감귤에 많이 함유하고 있는 polyphenol류는 두 개 이상의 벤젠고리에 수산기가 결합된 화학구조를 갖고 있는 성분으로 flavonoid, phenolic acid, coumarins, lignans 등에 속하는 화합물들이다.²⁾ 특히 감귤에서 가장 많이 알려진 flavonoid는 일반적으로 benzo-γ-pyrone 구조에 의해 특징 지워지는 페놀성 화합물이며 flavonols, flavones, flavanones, isoflavones, catechins, 그리고 anthocyanidins 등으로 분류된다.³⁾ 현재까지 감귤류에서 약 60여종의 flavonoid가 분리되었으며, 새로운 생리활성 성분이 계속하여 발견되고 있

다.⁴⁾ 최근 tangeretin이 암세포의 침윤 및 전이방지, 암세포의 자살유도작용(apoptosis), 백혈병 세포의 분화촉진 등에 효과가 있는 것으로 밝혀졌다.⁵⁾ 또한 이들의 기능성에 대한 평가로서 항산화작용, 순환기계통 질병의 예방, 항염증, 항알레르기, 항균, 항바이러스, 지질저하작용, 면역증강작용, 모세혈관 강화작용 등이 보고되었다.^{6,7)} 특히 감귤껍질 중의 naringin은 항균작용이 있으며, hesperidin은 혈압저하 효과가 있음이 보고되었다.^{8,9)}

병귤(瓶橘, *Citrus platymamma*)은 제주재래귤 중에서 향기가 뛰어나 제주민속주나 감귤엑상차의 제조에 첨가하는 경우 품질이 향상된다.¹⁾ 현재 병귤을 포함한 제주재래귤에 대한 구체적인 연구는 매우 미흡한 실정이다. 그리고 제주감귤이 부가가치 창출 및 이용성 증진으로 새 소득원 발굴과 더불어 품종 다양화에 기여할 필요가 있다. 따라서 제주재래귤인 병귤을 이용한 감귤리큐르로서 활용하기 위하여 이화학적 성분 및 기능성성분의 침출특성에 대한 기초적인 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료. 본 실험에 사용된 병귤(*Citrus platymamma*)은 제주특별자치도 농업기술원 감귤유전자원포장(제주시 애월읍 상

*Corresponding author
Phone: 82-64-754-3343; Fax: 82-64-756-3351
E-mail: jskoh@cheju.ac.kr

귀리)에서 수확하여 열풍건조 한 과피 부위를 사용하였다.

주정의 처리. 침출주 제조에 사용된 주정은 (주)대정화금에서 생산된 발효주정으로서 알코올 함량이 95%로 냄새가 매우 강하고 탁하였다. 주정을 물로 희석하여 50~55%로 조절한 후 탈취제인 활성탄을 1/당 1.3 g를 넣어 15~18시간 동안 방치 후 110 mm Whatman membrane filter로 2~3회 반복하여 여과하였다. 침출용매로는 여과한 주정에 물을 넣어 알코올 함량을 조절한 다음 15°C에서 10일 동안 방치한 후 사용하였다.

침출 특성. 침출용매로 각각 30, 50, 70, 95% 주정농도가 되도록 증류수를 사용하여 조절한 다음 건조과피 첨가량을 500 g/10 l(5%, w/v) 비율로 첨가하여 경시적인 침출변화를 조사하였다. 주정농도에 따른 침출시료는 5~10일 간격으로 sampling 한 다음 0.45 µm membrane filter로 여과한 후, 70일까지 sampling 한 시료를 4°C를 유지하는 냉장고에 보존하면서 성분분석에 사용하였다.

이화학적 특성. 병골과피의 침출기간에 따른 이화학적 특성을 조사하기 위하여 0.45 µm membrane filter로 여과한 후 침출시료액에 대하여 pH는 pH meter(Metrohm 691, Swiss), 색도는 분광색차계(color system JS555m, Japan)로 Hunter L, a, b값을 측정하였으며, 가용성고형물은 여과시킨 침출시료액 10 ml를 증량병에 취하여 105°C에서 증발시켜 남은 증발 잔유물을 측정하였다. 산 함량은 침출시료액 5 ml에 증류수를 일정량 가한 후 phenolphthalein을 2~3방울을 첨가하여 0.1 N NaOH로 담홍색이 될 때까지 적정한 다음 citric acid로 환산하였다.

유리당 분석. 주정농도에 따른 유리당의 함량 결정을 위하여 각각의 침출시료액을 3차 증류수로 분석농도에 알맞도록 5~20 배로 희석한 다음 C₁₈ Sep-pak cartridges(waters)를 통과시킨 후 0.2 µm membranes filter(Millipore, USA)로 여과한 것을 분석용 시료로 하였다. 유리당 분석은 HPLC(Waters Alliance 2690, USA)로 측정하였으며, 분석용 column은 Prevail™ carbohydrate 5 µm, 4.6×250 mm를 사용하여 acetonitrile : water (70 : 30)을 0.8 ml/min로 하여 ELSD 2000로 검출하였다. 유리당은 fructose, glucose, sucrose를 각각 100~500 µg/ml를 조제하여 검량선을 작성하였으며, 유리당의 표준품은 Sigma Chemical Co.(USA)를 사용하였다.

HPLC에 의한 flavonoid 분석. Flavonoids의 함량 측정을 위해서 침출시료액 1 ml를 취한 후 각각 methanol로 5배 희석한 후 0.2 µm membrane filter(Millipore, USA)로 여과한 것을 HPLC(waters 2690, USA) 분석용 시료로 사용하였다. 표준품은 rutin, narirutin, hesperidin, neohesperidin, diosmin, quercitrin, quercetin, naringenin, hesperitin(Sigma Chemical Co.), myricetin, nobiletin, 3,5,6,7,8,3',4'-methoxylated flavone, tangeretin(The University of Tokyo)으로 하였다. Hesperidin, diosmin, neohesperidin은 dimethyl sulfoxide(DMSO)을 일정량 넣어 녹였으며, 이 외의 제품은 methanol로 용해시켜 정용하였다. 분석조건은 Capcell pak C₁₈ UG120 5 µm 4.6×250 mm(Shiseido) column을 사용하여 0.1% phosphoric acid와 acetonitrile/methanol (50 : 50)의 용매를 0.9 ml/min로 하여 phosphoric acid를 0~10 분에는 69~62%로 10~30분에는 62~30%, 35~36분에는 30~69%로 하여 gradient를 조성한 후 UV 280 nm에서 분석하였다.

총 폴리페놀 분석. 총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu법¹⁰⁾으로 측정하였다. 즉, 침출액을 증류수로 5배 희석한 시료 1 ml에 50% Folin-Ciocalteu phenol reagent 1 ml를 넣은 후 10% Na₂CO₃ 1 ml를 가한 후 충분히 혼합한 후 1시간 동안 실온에 방치한 다음 UV-spectrophotometer(UV-1600 Shimadzu, Tokyo, Japan)을 이용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid(Sigma Chemical Co.)를 표준품으로 하여 검량선을 작성한 후 총 폴리페놀 함량을 산출하였다.

항산화 활성의 결정. 항산화 활성은 Blois 등의 방법¹¹⁾을 변형하여 DPPH(1,1-diphenol-2-picthylhydrazyl) free radical에 대한 전자공여능을 측정하였다. 시험관에 주정농도 및 원료비율을 달리하여 경시적으로 sampling하여 혼합한 다음 각각의 침출액 0.1 ml에 ethanol 0.9 ml를 혼합한 다음 0.25 mM DPPH(in ethanol) 1 ml를 넣은 후 vortex mixer로 10초간 진탕하고 15분간 실온에서 반응시킨 후 분광광도계를 사용하여 잔존하는 DPPH 자유라디칼을 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 침출액 무첨가구인 경우는 침출액 대신 0.1 ml ethanol을 가한 것을 대조구로 사용하였다. 항산화효과는 침출액을 첨가하지 않은 구에 대한 침출액을 첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}} \times 100$$

A_{sample}: 침출액 첨가구의 흡광도

A_{control}: 침출액 무첨가구의 흡광도

결과 및 고찰

pH의 변화. 건조시킨 병골과피를 5% 수준으로 첨가하여 주정농도에 따른 침출기간 동안에 pH 변화는 Fig. 1과 같다. 전체적으로 침출을 시작한 후 10일까지 급속하게 pH가 감소하는 경향을 보였으며, 20일을 경과하면서 각각의 주정농도에 따라 일정한 수준을 유지하였다. 감귤껍질을 침출원료로 사용하였을 때는 pH 값이 높고 주정원액에서는 주정 30%와 70%에서보다 낮은 값을 나타내어, 껍질에는 비교적 산 함량이 낮다고 판단되었다. 침출기간 중 주정농도에 따른 pH의 변화는 주정농도 30%에서는 5.19~4.80, 50%에서는 5.42~5.19, 70%에서는 5.57~5.37, 95%에서는 5.46~4.97이었다.

색도의 변화. 감귤의 황색색소의 하나인 carotenoid 성분은

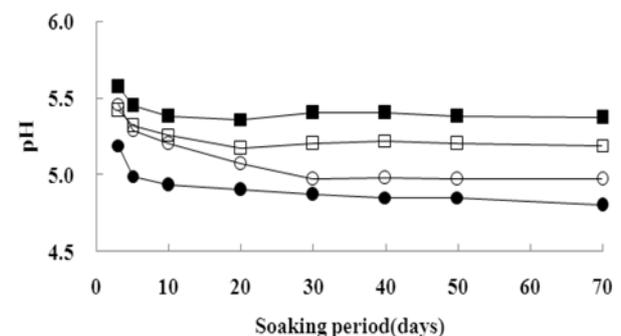


Fig. 1. Changes in pH of extract of dried *Citrus platymamma* peel at different ethanol concentration during soaking. Ethanol concentration: ●-● 30%, □-□ 50%, ■-■ 70%, ○-○ 95%.

Table 1. Changes in color of extract of dried *Citrus platymamma* peel at different ethanol concentration during soaking

| EtOH | Color | Soaking period (days) | | | | | | | |
|------|-------|-----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | 3 | 5 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 70 |
| 30% | L | 93.52 | 92.26 | 92.21 | 91.78 | 91.95 | 92.77 | 92.69 | 92.66 |
| | a | -8.65 | -8.99 | -8.96 | -8.48 | -8.60 | -8.72 | -8.74 | -8.84 |
| | b | 38.05 | 40.53 | 43.76 | 39.49 | 39.07 | 38.99 | 39.39 | 39.33 |
| 50% | L | 92.52 | 92.53 | 92.44 | 92.11 | 92.12 | 92.66 | 92.67 | 92.69 |
| | a | -8.77 | -9.03 | -8.96 | -8.76 | -8.91 | -9.03 | -9.06 | -9.16 |
| | b | 41.38 | 43.54 | 43.76 | 42.72 | 42.65 | 42.63 | 43.32 | 43.83 |
| 70% | L | 93.24 | 93.44 | 93.27 | 92.62 | 92.64 | 93.04 | 92.56 | 92.31 |
| | a | -9.66 | -10.22 | -10.35 | -10.16 | -10.35 | -10.44 | -10.33 | -10.12 |
| | b | 40.77 | 43.81 | 45.88 | 47.13 | 48.33 | 48.92 | 51.01 | 51.84 |
| 95% | L | 95.49 | 95.12 | 93.82 | 91.48 | 91.03 | 91.19 | 90.87 | 90.89 |
| | a | -15.15 | -16.51 | -16.72 | -14.27 | -12.99 | -12.63 | -12.13 | -12.01 |
| | b | 51.19 | 63.42 | 81.67 | 100.50 | 105.75 | 107.27 | 109.11 | 109.50 |

provitamin A로서의 기능, β-carotene을 중심으로 하는 항암작용과 면역기능의 증강, 그리고 심장질환에 대한 영향 등이 알려진 이래 단순한 색소로서의 의미를 벗어나 기능성 성분으로서 주목을 받고 있다.¹²⁾ 주정농도에 따른 병골건조과피의 침출기간 중 색도의 변화는 Table 1과 같다. 색도 L값은 대체로 주정농도 및 침출기간에 따른 차이는 크지 않았으며, 침출기간이 길어질수록 약간 감소하는 경향을 보였다. 주정농도 95%에서는 95.49에서 90.89로 서서히 L값이 낮아졌으며, 주정원액 외의 처리구에서는 93.52~92.31로 큰 변화 없이 침출 초기에 L값이 약간 높았다. 색도 a값은 주정농도 95%에서는 -15.15~-12.01로 침출기간이 길어질수록 점차 증가하는 경향이었으며, 주정원액 외의 처리구에서는 침출기간 내내 변화가 거의 없었다. 대체로 색도 a값은 주정농도가 증가할수록 낮은 값을 나타내었으며, 침출기간 보다는 주정농도에 의한 영향이 컸다. 색도 b값은 주정농도가 증가할수록 높은 경향이였다. 주정농도 50% 이하 처리구에서는 침출기간 동안 변화가 매우 적었으나, 70% 이상에서는 침출기간이 길어질수록 주정농도가 높을수록 증가폭이 컸다. 주정농도 30%와 50%에서는 각각 38.05~39.33, 41.38~43.83으로 b값의 변화폭이 매우 적었고, 주정농도 70%에서는 40.77~51.84, 주정농도 95%에서는 51.19~109.90이었다. 따라서 침출주를 제조할 때에 카로티노이드 등 유용성분의 침출을 많게 하기 위하여 주정농도를 70% 이상 높이는 것이 필요하였다.

가용성고형물 함량의 변화. 병골의 건조과피를 침출원료로 사용하여, 침출기간 동안 가용성고형물의 변화는 Fig. 2와 같다. 주정농도 30~70%로 건조과피 5%(w/v)를 첨가하여 70일 동안 침출하였을 때, 가용성고형물의 함량은 2.00~2.19%(w/v)를 유지하고 있어, 침출기간 및 주정농도에 의한 영향이 적게 나타났다. 침출 초기에 대부분의 가용성성분이 빠르게 용출됨을 알 수 있었다. 주정농도 95%에서는 0.76~1.60%(w/v)로 침출기간이 길어질수록 가용성고형물 함량이 지속적으로 증가하는 경향이였다. 침출 직후 주정농도 30~70%까지는 가용성고형물 함량이 높았고, 주정원액인 경우 30일을 경과하면서 일정수준을 유지하며 가용성고형물 함량이 가장 낮게 나타나 침출용매로 주정원액만 사용하는 것 보다는 일정비율 물을 혼합할 필요가 있었다. 주세법¹³⁾에 과실인 경우 가용성고형물이 2%보다 많아

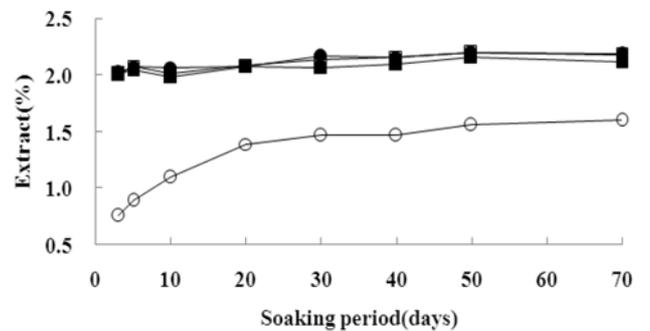


Fig 2. Changes in extract of dried *Citrus platymamma* peel at different ethanol concentration during soaking. Ethanol concentration: ●-● 30%, □-□ 50%, ■-■ 70%, ○-○ 95%.

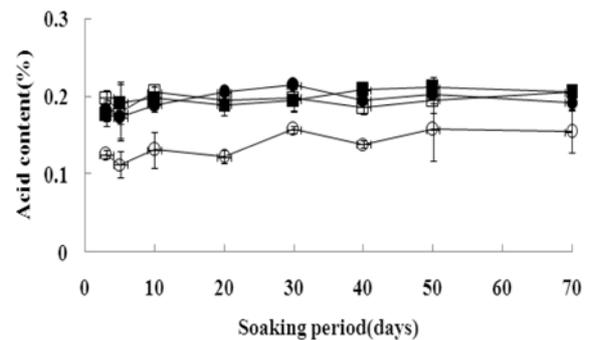


Fig 3. Changes in acid content of extract of dried *Citrus platymamma* peel at different ethanol concentration during soaking. Ethanol concentration: ●-● 30%, □-□ 50%, ■-■ 70%, ○-○ 95%.

야 리큐르로 허용되고 있기 때문에, 병골과피 외에 과육을 혼합하는 것도 좋은 효과가 있을 것이라 여겨진다.

산 함량의 변화. 주정농도에 따른 병골건조과피의 산 함량의 변화는 Fig. 3과 같다. 주정농도 30, 50, 70%에서는 산 함량의 차이가 거의 없이 0.182~0.205%(v/v)였으며 주정원액에서는 0.125~0.154%(v/v)로 다른 처리구에 비해 낮은 산 함량을 나타내었다. 침출 초기의 산 함량이 침출 후기에서도 거의 변화가 없어, 침출 초기단계에서 대부분의 유기산이 침출되는 것으로

Table 2. Changes in free sugar of extract of dried *Citrus platyamma* peel at different ethanol concentration during soaking (unit: mg/l)

| Free sugar | EtOH | Soaking period (days) | | | | | | | |
|------------|------|-----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | 3 | 5 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 70 |
| Fructose | 30% | 2.39±0.01 | 3.69±0.11 | 3.74±0.06 | 3.99±0.03 | 4.17±0.08 | 4.39±0.01 | 4.99±0.04 | 4.90±0.07 |
| | 50% | 2.07±0.03 | 3.54±0.05 | 3.78±0.09 | 3.87±0.11 | 3.99±0.10 | 4.20±0.03 | 4.57±0.27 | 4.57±0.07 |
| | 70% | 2.25±0.04 | 3.69±0.25 | 3.67±0.31 | 3.88±0.14 | 3.97±0.40 | 4.24±0.37 | 4.51±0.67 | 4.35±0.23 |
| | 95% | 1.06±0.34 | 1.56±0.10 | 2.29±0.12 | 3.13±0.07 | 3.67±0.16 | 3.56±0.15 | 3.67±0.39 | 3.72±0.51 |
| Glucose | 30% | 3.77±0.31 | 4.96±0.08 | 5.09±0.31 | 5.14±0.41 | 5.26±0.67 | 5.31±0.47 | 5.37±0.11 | 5.49±0.45 |
| | 50% | 3.30±0.47 | 4.51±0.49 | 4.87±0.57 | 4.74±0.46 | 4.73±0.41 | 4.95±0.44 | 5.31±0.61 | 5.22±0.63 |
| | 70% | 3.70±0.69 | 3.81±0.72 | 4.72±0.71 | 4.60±0.24 | 4.49±0.19 | 4.82±0.35 | 4.45±0.36 | 4.57±0.71 |
| | 95% | 1.41±0.07 | 2.83±0.55 | 2.71±0.51 | 3.07±0.16 | 3.31±0.16 | 3.63±0.20 | 3.89±0.29 | 3.95±0.42 |
| Sucrose | 30% | 1.78±0.14 | 1.34±0.22 | 1.22±0.35 | 0.90±0.31 | 0.78±0.08 | 0.44±0.07 | 0.42±0.10 | 0.36±0.08 |
| | 50% | 1.67±0.35 | 1.44±0.14 | 1.16±0.11 | 1.15±0.23 | 0.86±0.30 | 0.85±0.12 | 0.86±0.16 | 0.85±0.19 |
| | 70% | 1.48±0.07 | 1.53±0.34 | 1.43±0.15 | 1.13±0.27 | 0.93±0.11 | 0.98±0.07 | 0.92±0.09 | 0.91±0.10 |
| | 95% | 0.42±0.06 | 0.51±0.06 | 0.66±0.17 | 0.67±0.13 | 0.79±0.10 | 0.85±0.09 | 0.83±0.04 | 0.95±0.05 |

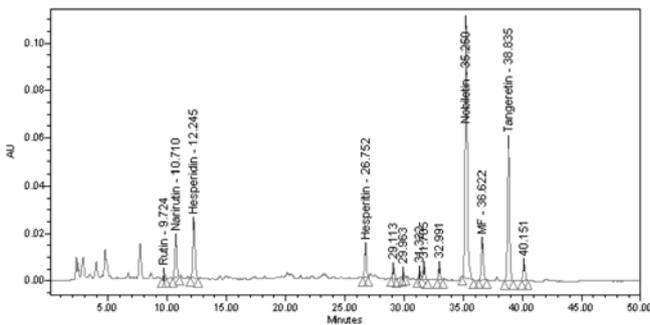


Fig 4. HPLC chromatogram of flavonoid of *Citrus platyamma* peel.

판단되었다. 주정원액만을 이용하는 것보다는 내용성분들을 많이 침출하기 위하여 물을 일정비를 혼합하여 침출시키는 것이 효과적이라 판단되었다.

유리당 함량의 변화. 주정농도를 달리하여 병굴건조과피를 침출시켰을 때, 유리당의 변화는 Table 2와 같다. 대체적으로 주정농도가 낮을수록 유리당이 많이 침출되는 경향이었으나, fructose 및 glucose에서와 sucrose의 변화양상에는 큰 차이를 나타내었다. 주정농도 30%에서 침출기간 동안에 fructose는 2.39~4.99 mg/l, glucose는 3.77~5.49 mg/l가 침출되었다. 주정농도가 낮을수록 그 함량이 높았고, 침출 후 20일을 경과하면서는 함량변화에 차이가 없었다. sucrose는 침출 초기에서는 주정농도가 낮을수록 함량이 높았으나, 주정농도 30~70%에서는 침출기간이 길어질수록 sucrose 함량이 점차 낮아진다. 주정농도 95%에서는 침출기간이 길어질수록 그 함량이 지속적으로 증가하는 경향을 보였다.

Flavonoids 함량의 변화. 병굴과피의 주요 flavonoids는 narirutin, hesperidin, nobiletin, 3,5,6,7,8,3'4'-methoxylated flavone, tangeretin 5종으로 chromatogram은 Fig. 4와 같고, 분석결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. 5종의 flavonoids 중 narirutin 함량이 주정 70% 처리에서 266.5~359.4 µg/m/로 가장 높았으며, 다음으로 nobiletin, tangeretin, 3,5,6,7,8,3'4'-methoxylated flavone, hesperidin 순이었다. 대부분의 flavonoids 성분은 침출을 시작하여 3~5일에 80% 이상이 침출액으로 빠르게 용출되는 경향이

있으며, 주정원액 처리 외에는 침출 20일 이후에 함량의 변화가 거의 없었다. 주정농도 95%는 침출 50일까지 flavonoids 함량이 증가하는 경향을 나타내었다. 주정농도를 달리하였을 때, 대체로 주정원액 처리구 외에서는 주정농도가 높을수록 증가하는 경향이였다. 각각의 flavonoids 성분은 주정원액인 경우에 가장 낮은 함량을 나타낸 반면, 주정농도 70%에서가 가장 많은 함량을 보였다. 전체 과실을 이용한 절단시료보다 전체적인 flavonoids 함량이 낮았으나, nobiletin과 tangeretin은 병굴과피에서 약 2배 많게 침출되었다. 감귤의 flavonoids는 과실의 성숙 단계에 따라 flavonoids의 함량에 많은 차이가 있으며, 과실의 완숙기에 도달함에 따라 flavonoids 함량은 급속히 감소한다.¹⁴⁾ 병굴의 주요 flavonoid로서 hesperidin이라고 보고되었으나,¹⁵⁾ 본 실험에서는 narirutin, hesperidin, nobiletin, 3,5,6,7,8,3'4'-methoxylated flavone, tangeretin이 주요 flavonoids였으며, 이 중에서 narirutin 함량이 가장 많았다. 제주산 감귤류의 주요 flavonoids는 naringin과 hesperidin로 알려져 있으나, 본 실험결과와는 차이가 있었다.¹⁶⁾ 병굴과피를 이용하여 기능성 식품소재인 flavonoid의 추출효율을 높이기 위해서는 주정농도를 50~70% 되도록 침출용매를 조절하여 10~20일 동안 침출시키는 것이라 판단되었다.

총 폴리페놀의 변화. 페놀성 물질은 식물계에 널리 분포하는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 갖는데, 식물체에 존재하는 다양한 페놀화합물은 수산기를 통한 수소공여와 페놀고리 구조의 공명 안정성에 의해 항산화 능력을 나타낸다.¹⁷⁾ 병굴건조과피를 주정으로 침출하였을 때, 주정농도에 따른 총 폴리페놀 함량의 변화는 Fig. 7과 같다. 70% 주정을 침출용매로 사용하여 20일 동안 침출시켰을 때 711.2 µg/m/로 가장 많았으며, 주정농도 30%, 50%에서는 각각 628.9, 628.8 µg/m/였다. 주정농도 95%인 경우는 침출기간이 길어질수록 그 함량이 증가하였다. 주정농도 30, 50, 70%에서는 침출 중에 함량의 변화가 거의 없어 침출 초기에 폴리페놀 성분이 빠르게 침출된 것으로 여겨진다. Flavonoid의 변화에서와 같이 주정원액에서가 가장 낮은 함량을 보여주고 있어 침출용매로 희석한 주정원액을 사용하는 것이 효과적이라 판단되었다.

항산화활성의 변화. 인체 내의 free radical은 지질, 단백질 등

Table 3. Changes in flavonoid of extract of dried *Citrus platymamma* peel at different ethanol concentration during soaking (unit: $\mu\text{g}/\text{ml}$)

| Flavonoids | EtOH | Soaking period (days) | | | | | | | |
|------------|------|-----------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | 3 | 5 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 70 |
| NR | 30% | 238.6±11.8 | 260.6±17.6 | 303.5±43.8 | 319.6±30.2 | 322.0±25.2 | 337.2±9.7 | 329.9±12.1 | 339.7±17.5 |
| | 50% | 261.7±23.5 | 294.6±52.1 | 329.5±32.3 | 353.9±10.9 | 350.6±9.8 | 360.2±7.9 | 346.8±19.4 | 329.0±10.9 |
| | 70% | 266.5±10.9 | 292.7±9.8 | 326.2±10.7 | 329.7±8.0 | 349.4±11.7 | 344.5±20.8 | 359.4±15.7 | 331.4±3.8 |
| | 95% | 99.3±13.6 | 131.6±4.7 | 174.3±8.7 | 220.8±9.1 | 256.3±13.1 | 255.3±13.2 | 279.2±19.6 | 277.7±4.8 |
| HD | 30% | 52.8±4.6 | 57.5±7.4 | 66.3±4.3 | 61.0±7.0 | 60.6±4.1 | 59.7±8.2 | 61.7±7.7 | 61.3±2.0 |
| | 50% | 64.6±3.0 | 71.6±3.8 | 82.0±9.6 | 78.4±7.6 | 79.6±7.2 | 80.4±7.3 | 83.0±4.9 | 81.9±5.2 |
| | 70% | 70.9±10.9 | 79.1±9.5 | 87.3±3.4 | 84.5±3.8 | 88.9±4.6 | 87.3±5.7 | 95.8±8.9 | 92.5±10.1 |
| | 95% | 27.3±1.9 | 33.4±2.0 | 43.5±3.9 | 53.4±2.7 | 62.1±2.6 | 61.7±1.8 | 66.9±6.6 | 66.7±4.9 |
| NT | 30% | 185.9±18.4 | 208.8±14.9 | 248.6±17.3 | 243.3±14.3 | 242.6±18.2 | 248.7±11.3 | 249.8±20.6 | 254.9±14.1 |
| | 50% | 204.5±16.8 | 227.8±17.0 | 259.5±11.0 | 251.4±13.6 | 261.1±18.9 | 264.4±23.1 | 266.4±10.9 | 263.8±13.2 |
| | 70% | 209.2±10.3 | 230.2±13.6 | 257.3±13.4 | 250.5±16.2 | 261.1±18.1 | 255.0±19.6 | 279.9±24.2 | 287.0±26.8 |
| | 95% | 84.6±7.2 | 108.4±6.1 | 150.0±8.9 | 206.1±7.3 | 237.8±7.9 | 240.9±11.3 | 259.3±13.1 | 259.1±9.5 |
| MF | 30% | 61.5±4.0 | 67.1±3.9 | 78.8±8.2 | 76.5±1.0 | 76.6±6.2 | 75.8±9.1 | 78.7±7.3 | 79.2±5.5 |
| | 50% | 65.4±6.2 | 71.5±8.5 | 80.8±4.1 | 76.9±2.3 | 79.1±5.9 | 80.2±6.0 | 80.6±6.2 | 79.4±5.2 |
| | 70% | 66.8±3.3 | 73.1±4.0 | 80.3±5.8 | 77.2±5.7 | 80.0±4.3 | 79.0±6.3 | 84.4±7.4 | 83.5±6.5 |
| | 95% | 26.2±2.1 | 34.7±1.0 | 44.9±7.2 | 61.3±3.3 | 72.8±4.2 | 72.0±1.9 | 79.2±4.5 | 79.5±8.6 |
| TT | 30% | 98.7±9.9 | 108.9±4.8 | 128.5±13.9 | 126.0±8.7 | 125.0±8.6 | 126.8±6.8 | 130.0±7.2 | 133.3±6.9 |
| | 50% | 121.7±4.5 | 134.2±5.2 | 152.5±14.2 | 147.5±8.6 | 152.4±7.0 | 154.9±9.0 | 153.8±6.3 | 153.8±7.1 |
| | 70% | 124.8±6.9 | 138.6±7.0 | 153.2±13.3 | 148.4±6.2 | 155.1±8.7 | 151.9±4.9 | 164.0±9.3 | 158.4±7.2 |
| | 95% | 53.4±3.6 | 66.2±3.9 | 88.8±4.8 | 122.7±8.8 | 145.6±10.2 | 146.9±6.5 | 160.8±11.5 | 155.8±13.6 |

NR: Narirutin, HD: Hesperidin, NT: Nobiletin, MF: 3,5,6,7,8,3',4'-methoxylated flavone, TT: Tangeretin.

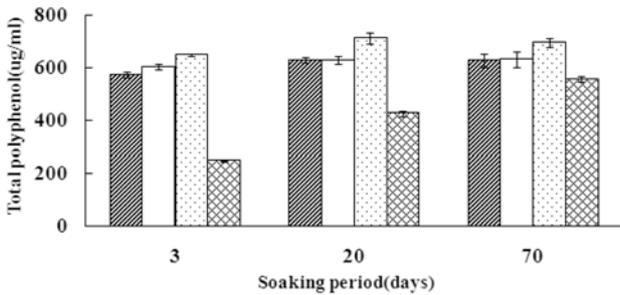


Fig 5. Changes in total polyphenol of extract of dried *Citrus platymamma* peel at different ethanol concentration during soaking. Ethanol concentration: 30%, 50%, 70%, 95%.

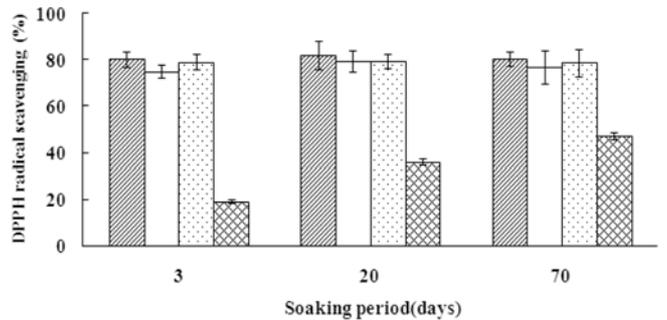


Fig 6. Changes in DPPH radical scavenging of extract of dried *Citrus platymamma* peel at different ethanol concentration during soaking. Ethanol concentration: 30%, 50%, 70%, 95%.

과 결합하여 생체의 노화를 일으키는 물질이며, 이러한 free radical을 제거할 수 있는 천연물에 대한 연구가 끊임없이 이루어지고 있다. 특히 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical 소거법은 항산화물질의 전자공여능으로 인해 방향족 화합물 및 방향족 아민류에 의해 환원되어 자색이 탈색되는 정도를 나타내는 지표로 하여 항산화능을 측정하는 방법이다.¹⁸⁾ 주정농도를 달리한 각각의 침출용매에 건조시킨 병골건조과피를 5%(w/v) 첨가하여 70일 동안 침출시켰을 때, 항산화 활성의 변화는 Fig. 8에 나타내었다. 침출기간 동안에 항산화 활성은 주정농도 30, 50, 70%에서 74.89~82.16%이었으며, 주정원액에서는 19.09~47.05%로 침출 중 지속적으로 높아지는 경향을 보였다. 주정원액을 침출용매로 이용하였을 때를 제외하고는 주정농도 및 침출기간 동안 항산화 활성의 변화에는 차이 없이 높은 항산화 효과를 유지하였으며, 총 폴리페놀 함량의 증가가 항산화 활성의 증가에 영향을 미쳤음을 알 수 있었다. 주정원액에서는 낮

은 항산화 효과를 보여 병골과피를 침출시키는 용매로는 주정에 물을 혼용하여 사용하는 것이 항산화 효과를 높일 수 있다고 판단되었다.

초 록

제주산 병골을 침출주의 소재로 활용하기 위하여 30~95% 주정농도에 건조과피를 각각 500 g/10 l(5%, w/v) 비율로 첨가하여 70일간 침출특성을 검토하였다. 주정농도 30%에서 pH는 5.19~4.80으로 가장 낮았으며, 침출 후 10일까지 주정농도가 낮을수록 감소하는 경향이였다. 주정농도가 높을수록 색도 a값이 낮아지고, b값이 증가하였다. 가용성고형물은 주정농도 30~70%에서 2.00~2.19%(w/v)로, 지속적으로 증가하는 경향이였다. 산 함량은 주정농도 30~70%에서 0.18~0.21%(v/v)로 차이가 거의

없었으며, 주정농도 95%에서는 0.13~0.15%(v/v)였다. 주정농도 낮아질수록 fructose와 glucose가 많았으며, 침출기간이 길어질수록 sucrose 함량은 낮았다. 병귤과피의 주요 flavonoid는 narirutin, hesperidin, nobiletin, 3,5,6,7,8,3'4'-methoxylated flavone, tangeretin이었고, 대부분의 flavonoids는 침출 후 3~5일에 80% 이상 용출되었다. 총 폴리페놀 함량은 주정농도 30~70%로 20일 침출에서 628.8~711.2 µg/ml였으며, 주정원액에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 따라서 병귤과피를 침출주 원료로 사용하였을 때, 주정농도 50~70%에서 20일 동안 침출시키는 방법이 효과적이었다.

Key words: *Citrus platyamma* peel, soaking, flavonoid, total polyphenol, DPPH radical scavenging

참고문헌

1. Koh, J. S. (2001) Citrus Industry, pp. 163-172, Jeju-Munhwasa, Korea.
2. Laura, B. (1998) Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance provides a nice overview of the nutritional significance of flavonoids as well as other types of food polyphenols. *The lead review article in Nutrition Reviews*. **56**, 317-333.
3. Catherine, F., Odile, T., Christine, M., Claudine, M., Augustin, S., Françoise, R., Christian, R. (2000) Bioavailability of the flavanone naringenin and its glycosides in rats. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver physiol.* **279**, G1148-G1154.
4. Mouly P. P. M., Arzouyan C. G., Gaydou E. M, Estienne J. M. (1994) Differentiation of citrus juices by factorial discriminant analysis using liquid chromatography of flavanone glycosides. *J. Agric. Food Chem.* **42**, 70-79.
5. Cha, J. Y., Kim, S. Y., Jeong, S. J. and Cho, J. S. (1999) Effects of hesperitin and naringenin on lipid concentration in orotic acid treated mice. *Korean J. Life Science* **9**, 389-394.
6. Sohn, J. S. and Kim, M. K. (1998) Effect of hesperidin and naringin on antioxidative capacity in the rat. *Korean Nutr. Soc.* **31**, 687-696.
7. Kawa, K., Hiznno T., Aida K., Uchino K. (1997) Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and *Pseudomonas*. *Biosci, Biotechnol. Biochem.* **61**, 102-104.
8. Son, H. S., Kim, H. S., Kwon., T. B. and Ju, J. S. (1992) Isolation, purification and hypotensive effect of bioflavonoids in *Citrus sinensis*. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **21**, 136-142.
9. Koh, J. S. (2003) Alcoholic beverages of Jeju. Jeju-Munhwasa, Korea.
10. Subramaniam, K. N., Padmanaban, G., Sarma, P. S. (1965) Folin-Ciocalteu reagent for the estimation of siderochromes. *Anal. Biochem.* **12**, 106-112.
11. Blois, M. S. (1958) Antioxidant activity determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1190-1200.
12. Kim, B. J., Kim, H. S., Koh, J. S. and Kang, Y. J. (1996) Carotenoid, color, value, UV spectrum, organic acid and free sugar contents of citrus varieties produced in Cheju. *Korean J. Post-Harvest Sci. Technol. Agri. Products* **3**, 23-32.
13. Research Institute of National Tax Service (1995) In textbook of alcoholic beverage-making, Seoul.
14. Song, E. Y., Chol, Y. H., Kang, K. H. and Koh, J. S. (1998) Free sugar, organic acid, hesperidin, naringin and inorganic elements changes of Cheju citrus fruits according to harvest date. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 306-312.
15. Rhyu, M. R., Kim, E. Y., Bae, I. Y., Park, Y. K. (2002) Contents of naringin, hesperidin and neohesperidin in premature Korea citrus fruits. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 132-135.
16. Kim, Y. C., Koh, K. S. and Koh, J. S. (2001) Changes of flavonoids in Jeju native citrus fruits during maturation. *Food Sci. Biotechnol.* **10**, 483-487.
17. Shahidi F, Wanasundara P. K. (1992) Phenolic antioxidant. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **32**, 67-103.
18. Chio, C. S., Song, E. S., Kim, J. S., Kang, M. H. (2003) Antioxidative activities of *Castanea Crenata Flos*. methanol extract. *Korean J. Food Sci. Technol.* **35**, 1216-1220.